

Aus dem Institut für Parasitologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. J. Boch

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR PASSIVEN UND
ADOPTIVEN ÜBERTRAGUNG DER IMMUNITÄT GEGEN
EIMERIA NIESCHULZI

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Wittchow
Tierarzt aus Rogasen
Berlin 1972
Journal Nr. 783



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550808_0057

Aus dem Institut für Parasitologie
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. J. Boch

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN ZUR PASSIVEN UND
ADOPTIVEN ÜBERTRAGUNG DER IMMUNITÄT GEGEN
EIMERIA NIESCHULZI

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Wittchow
Tierarzt aus Rogasen
Berlin 1972
Journal Nr. 783

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität
Berlin



Vorsitzender: Prof. Dr. H.-J. Sinell

Referent: Prof. Dr. M. Rommel

Korreferent: Prof. Dr. F. Hörchner

Tag der Promotion: 12. Juli 1972

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Das Wesen der Immunität gegen Kokzidien (anhand der Literatur)	2
a. Lokale Faktoren	2
b. Humorale Antikörper	4
c. Zelluläre Immunmechanismen	6
III. Eigene Untersuchungen	9
A. Material und Methodik	9
B. Ergebnisse	11
a. Versuch zur passiven und adoptiven Übertragung der Immunität	11
b. Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Faktoren (Immuni- sierungszeitpunkt und Applika- tionsmodus) bei der passiven Übertragung der Immunität	16
IV. Besprechung der Ergebnisse	19
V. Zusammenfassung	22
Summary	23
VI. Literaturverzeichnis	24

Lebenslauf

I. Einleitung

Schon seit langem ist bekannt, daß eine Kokzidieninfektion eine Immunität gegen eine nachfolgende Infektion hinterläßt. Sie ist bei den einzelnen Eimerienarten von verschiedener Stärke und Dauer. Außerdem ist sie von einer Reihe anderer Faktoren abhängig, wie z. B. der Dosis der Erstinfektion oder der allgemeinen Reaktionslage des Wirtstieres.

Über den Mechanismus der Immunität gegen Kokzidien wurde bereits eine Fülle von Untersuchungen durchgeführt, jedoch konnte ihr Wesen bisher nicht vollständig geklärt werden.

Die Meinung, daß ausschließlich lokale Faktoren für Ausbildung und Aufrechterhaltung der Kokzidienimmunität verantwortlich seien, mußte aufgegeben werden. Zahlreiche Untersucher konnten humorale Antikörper gegen Kokzidien bei einer Vielzahl von Wirtstierarten nachweisen, und schließlich gelang in jüngster Zeit bei Hühnern die passive Immunisierung durch Serum. Andere Arbeiten dagegen berichten von erfolgreichen Versuchen zur adoptiven Übertragung der Immunität durch spezifisch sensibilisierte Lymphozyten.

Ich erhielt die Aufgabe, an Ratten zu prüfen, ob die Immunitätsübertragung durch tägliche Immunserumgaben während der Infektion, durch einmalige Serumgabe vor der Infektion oder durch Transplantation sensibilisierter Lymphozyten am wirksamsten ist. Ferner sollte festgestellt werden, ob sich passiv durch Serum und adoptiv übertragene Immunitätsmechanismen in ihrer Wirkung addieren oder eventuell potenzieren.

II. Das Wesen der Immunität gegen Kokzidien

(anhand der Literatur)

Einen umfassenden Literaturüberblick über die Immunität gegen Kokzidien geben HORTON-SMITH und Mitarb. (1963) und ROMMEL (1969).

Weil mir eine chronologische Ordnung der Literatur ebenso wie eine Einteilung nach Tierarten oder Eimerienspezies im Sinne der Übersichtlichkeit als unzweckmäßig erschien, ordnete ich die Arbeiten ihrem Inhalt nach unter den drei folgenden Themenkomplexen ein: a. Lokale Faktoren, b. humorale Antikörper und c. zelluläre Immunmechanismen.

a. Lokale Faktoren

Da alle frühen Versuche, die Immunität gegen Kokzidien passiv durch Serum oder Blut immuner Tiere auf empfindliche zu übertragen, scheiterten, und außerdem lange Zeit keine Serumantikörper nachgewiesen werden konnten, setzte sich zunächst die Ansicht von BECKER und Mitarb. (1935) durch, daß die Immunität gegen Eimerien auf lokale Faktoren zurückzuführen sei. MOREHOUSE (1938) glaubte, da er bei der Reinfektion mit *Eimeria nieschulzi* keine in die Darmepithelien eingedrungenen Sporozoiten fand, daß die Zellen selbst die Eigenschaft erworben hätten, sich gegen eine erneute Invasion zu schützen. TYZZER und Mitarb. (1932) konnten beobachten, daß auch bei immunen Hühnern Sporozoiten in die Zellen eindrangen, sich aber nicht weiterentwickelten. Neuere Arbeiten an Hühnern (HORTON-SMITH und Mitarb., 1963; LEATHLM und BURNS, 1967), Kaninchen (ROSE, 1959) und Puten (AUGUSTIN und RIDGES, 1963) bestätigen die von TYZZER und Mitarb. (1932) erhobenen Befunde. Jedoch konnte in keinem der zitierten Fälle die Frage beantwortet werden, ob lokale oder auch andere Immunitätsmechanismen für die ausbleibende Weiter-

entwicklung der Parasiten verantwortlich waren.

Welche Bedeutung dem Interferon bei der Immunität gegen Kokzidien zukommt, ist noch ungenügend untersucht. Man weiß, daß Interferon auch von Protozoen induziert werden kann (RYTEL und JONES, 1966) und die Entwicklung von Eizellern zu hemmen vermag (SCHULZ und Mitarb., 1968). LONG und MILNE (1971) fanden, daß mit dem Interferon induzierenden Pharmakon 'Statolon' behandelte Hühner nach einer Infektion mit *Eimeria maxima* eine gegenüber unbehandelten Kontrolltieren verringerte Oozystenausscheidung aufwiesen. FAYER und BARON (1971) berichten in einer Kurzveröffentlichung von einer erheblichen Einschränkung der Entwicklungsfähigkeit von *Eimeria tenella* durch Interferon.

Ob den Makrophagen bei Kokzidieninfektionen eine Abwehrfunktion zukommt, ist noch unklar. VAN DOORWINCK und BECKER (1957), CHALLEY und BURNS (1959), PATILLO (1959) und DORAN (1966) fanden bei vollempfänglichen Hühnern sowohl unveränderte als auch veränderte Stadien von Kokzidien in Makrophagen, während HUFF und CLARK (1970) morphologisch veränderte Parasiten nur in den Makrophagen immuner Tiere fanden. BECKER und Mitarb. (1935) stellten fest, daß eine Blockierung der Makrophagen durch Trypanblau, Kohleteilchen oder Serum anderer Tierarten keine Auswirkungen auf Infektionsablauf und Immunitätsausbildung bei der *Eimeria miyairii*-Infektion der Ratte hat. AUGUSTIN und RIDGES (1963) erwägen die Möglichkeit, daß die Makrophagen bei einigen Eimerienarten als notwendiges Transportmittel fungieren.

Muko- oder Koproantikörper konnten bei kokzidieninfizierten Tieren bislang nicht nachgewiesen werden (AUGUSTIN und RIDGES, 1963; HORTON-SMITH und Mitarb., 1963).

b. Humorale Antikörper

HORTON-SMITH und Mitarb. (1961) sowie BURNS und CHALLEY (1959) nutzten bei ihren Experimenten mit Hühnern das Vorhandensein zweier Blinddärme. Sie konnten zeigen, daß durch Ligaturen auf ein Zäkum begrenzte Kokzidieninfektionen die Immunität auch der anderen Seite bewirken. Somit wurde eine ausschließlich lokale Grundlage für die Kokzidienimmunität unwahrscheinlich. Die Autoren vermuteten, daß humorale und/oder zelluläre Abwehrmechanismen von entscheidender Bedeutung seien.

Der Hauptgrund für die Annahme, daß Serumantikörper für die Immunität gegen Kokzidien keine Bedeutung haben, war das Scheitern aller Versuche, Immunität passiv durch Serum oder Blut zu übertragen (TYZZER, 1929; BACHMANN, 1930; BECKER und HALL, 1933). Auch Versuche, Serumantikörper nachzuweisen, erbrachten zunächst negative Ergebnisse (Literatur bei ROSE, 1959, 1961; HORTON-SMITH und Mitarb., 1963). 1954 gelang es McDERMOTT und STAUBER erstmals, bei der Blinddarmkokzidiose der Hühner Merozoiten agglutinierende Antikörper nachzuweisen. In zahlreichen neueren Arbeiten wird schließlich über präzipitierende, agglutinierende, lysierende und komplementbindende Antikörper im Serum immuner Tiere berichtet (HEIST und MOORE, 1959; ROSE, 1959, 1961; RIDGES, 1962; ROSE und LONG, 1962; HORTON-SMITH und Mitarb., 1963; LONG und Mitarb., 1963; AUGUSTIN und RIDGES, 1963; ITAGAKI und TSUBOKURA, 1963; PIERCE und Mitarb., 1963; LONG und ROSE, 1963; BURNS und CHALLEY, 1965; HERLICH, 1965).

ČERNÁ (1966, 1969) gelang mit Hilfe der indirekten Fluoreszenztechnik der Antikörpernachweis im Serum von Kaninchen und Hühnern.

Subkutane und intramuskuläre Injektionen von Schizonten-

antigen bei Küken und Kaninchen induzierten Antikörper, die mit den nach oraler Infektion auftretenden Immunkörpern identisch waren (HORTON-SMITH und Mitarb., 1963). Eine Schutzwirkung gegen nachfolgende orale Infektion konnte nicht festgestellt werden. Gegen intravenöse Infektion mit *Eimeria tenella*-Sporozoitien vermochten LONG und ROSE (1965) Hühner durch intravenöse Injektion von Immuneserum zu schützen.

Nach der Entdeckung humoraler Antikörper wurden erneut zahlreiche Versuche unternommen, die Immunität gegen orale Kokzidieninfektionen passiv durch Blut, Serum, Globuline oder Schleimhautextrakte zu übertragen (Literatur bei ROMMEL, 1969). Jedoch berichtet nur ROSE (1971) von einem Erfolg. Durch tägliche intravenöse oder intraperitoneale Immuneserumgaben über einen längeren Zeitraum gelang es ihr, die Oozystenausscheidung von oral mit *Eimeria maxima* infizierten Küken deutlich zu reduzieren. Die Stärke der Schutzwirkung war abhängig von der Immuneserumdosis und dem Zeitpunkt der Übertragung.

Milzexstirpation bei Hühnern, Puten und Schweinen, sowie hormonelle Unterdrückung der Entwicklung der Bursa Fabricii oder Bursektomie bei Hühnern hatten keinen Einfluß auf die Immunitätsausbildung oder den Infektionsablauf bei Kokzidieninfektionen (LONG und PIERCE, 1963; PIERCE und LONG, 1965; BURNS und CHALLEY, 1965; ROSE, 1968a; ROMMEL, 1969; ROSE und LONG, 1970). Beide Organe sind in erheblichem Maße an der Antikörperproduktion beteiligt; ihre Entfernung oder Unterdrückung bedeuten eine starke Einschränkung der Antikörperproduktion. Diese Befunde stehen also im Gegensatz zu dem von ROSE (1971) berichteten Erfolg.

Eine Immunitätsweitergabe von Eltern auf ihre Nach-

kommen findet nicht statt (LONG und ROSE, 1962; HORTON-SMITH und Mitarb., 1963).

c. Zelluläre Immunmechanismen

Durch Versuche mit Antilymphozytenserum und Kortikosteroiden sowie erfolgreiche Untersuchungen bei anderen intrazellulären Protozoeninfektionen angeregt, traten in jüngster Zeit zelluläre Aspekte bei der Kokzidienimmunität mehr in den Vordergrund.

Die Einleitung der auf zellulärer Basis beruhenden Immunität wird durch sensibilisierte Lymphozyten vermittelt. Diese Lymphozyten sollen mit zellständigen Antikörperstrukturen beladen sein (GÜNTER, 1965). Wegen des verzögerten Einsetzens der Immunreaktion spricht man vom sogenannten Spätreaktionstyp. Die Hypersensibilitätsreaktion vom Spättyp in Form der Tuberkulinreaktion ist die bekannteste Immunreaktion auf zellulärer Basis. Sie kann nicht mit dem Serum eines sensibilisierten Individuums, sondern nur mit lymphoiden Zellen aus dem Immunsystem auf nichtsensibilisierte Individuen übertragen werden. Über erfolgreiche Übertragungsversuche berichten u. a. CHASE (1945) und BAUER und STONE (1961).

Treten Hypersensibilitätsreaktionen vom Spättyp auf, so kann man auf Abwehrmechanismen zellulärer Natur schließen. Schon HENRY (1931) beschrieb bei kokzidieninfizierten Meerschweinchen Überempfindlichkeitsreaktionen vom Spättyp. Intrakutanteste mit Schizontenantigenen von *Eimeria scabra* und *E. polita* an Schweinen machen das Auftreten von Hypersensibilitätsreaktionen vom Spättyp wahrscheinlich (ROMMEL, 1969).

Die wirksamste bisher bekannte immunsuppressive Substanz bei zellulären Abwehrreaktionen ist das Anti-lymphozytenserum (ALS). ALS unterdrückt Überempfindlichkeitsreaktionen vom Spättyp und verlängert die Lebensdauer von Gewebetransplantaten. CENTURIER (1970) konnte mit ALS die nach FRENKEL (1967) durch sensibilisierte Lymphozyten vermittelte Immunität gegen Toxoplasmen unterdrücken und latente Toxoplasma-Infektionen bei Mäusen reaktivieren. ROSE (1968b) sah keinen Einfluß von ALS auf die Immunität gegen nicht näher bezeichnete Eimerienarten, während EUZÉBY und Mitarb. (1969) bei Hühnern eine bestehende Immunität mit Antiseren gegen Zellen aus der Bursa Fabricii und Thymozyten durchbrechen konnten. Schwer zu interpretierende Ergebnisse erbrachten von ROMMEL (1969) an kokzidieninfizierten Schweinen durchgeführte Experimente. Es gelang ihm, mit ALS die Immunitätsausbildung zu verhindern, jedoch nicht eine bereits bestehende Immunität zu unterdrücken.

Kortikosteroide wirken suppressiv sowohl auf die Antikörperbildung als auch auf zelluläre Immunmechanismen. Bestehende Antikörper werden jedoch nicht angegriffen, und auch Antigen-Antikörperreaktionen werden nicht verhindert. Durch tägliche Kortikosteroidbehandlung vom 6. Tag vor bis zum 10. Tag nach einer Testinfektion vermochte ROMMEL (1969) bei Läufern eine bestehende Immunität gegen Eimeria scabra fast vollständig zu unterdrücken. ROSE (1970) sowie LONG und ROSE (1970) fanden nach Betamethasonbehandlung eine verlängerte Patenz und erhöhte Oozystenausscheidung bei Eimeria mivati-infizierten Hühnern.

Durch Thymektomie bei Hühnern, die keinen Einfluß auf

die Antikörperbildung hat, wohl aber auf zellulär bedingte Immunantworten, wurde zwar nicht die Immunitätsausbildung gegen Eimerien verhindert, die Tiere schießen aber während der Infektion vermehrt Oozysten aus (PIERCE und LONG, 1965; ROSE und LONG, 1970). Histologische Kontrollen ergaben, daß die Thymi nur partiell entfernt worden waren.

Bei einer Vielzahl parasitärer Infektionen wurde inzwischen durch adoptive Übertragung mittels sensibilisierter lymphoider Zellen eine zelluläre Basis der Immunität nachgewiesen (Literatur bei ROMMEL, 1969). Nach vielen gescheiterten Versuchen an nicht isogenen Tieren konnten in jüngster Zeit auch bei der Kokzidieninfektion Erfolge verzeichnet werden. HEYDORN (1970) berichtete von erfolgreichen Versuchen zur adoptiven Übertragung der Kokzidienimmunität bei Eimeria nieschulzi-infizierten isohistokompatiblen Ratten durch spezifisch sensibilisierte Lymphozyten aus den Mesenteriallymphknoten. LIBURD und MAHRT (1971), die ebenfalls mit Eimeria nieschulzi und Inzuchtratten arbeiteten, vermochten mit Lymphozyten aus dem Ductus thoracicus die Immunität adoptiv zu übertragen.

III. Eigene Untersuchungen

A. Material und Methodik

Als Versuchstiere für die adoptiven Übertragungsexperimente benutzte ich isohistokompatible weibliche Ratten vom Stamm BDE/Han aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover. Die Tiere hatten ein Gewicht von 160-200 g. Passive Übertragungsversuche wurden mit weiblichen, 180-240 g schweren SPRAGUE-DAWLEY-Albinoratten aus dem Institut für Versuchstierkunde der FU Berlin durchgeführt. Es wurden ausschließlich kokzidienfrei aufgezogene SPF-Ratten verwandt. Gehalten wurden die Versuchstiere in Makrolonkäfigen in einem isolierten, vollklimatisierten Raum. Sie erhielten ALTROMIN-Standard-Diät sowie Wasser ad libitum. Jeden 3. Tag setzte ich die Ratten in sterilisierte Käfige um. Im gleichen Zyklus untersuchte ich mit der Zinkchlorid-Kochsalz-Flotation Sammelkotproben auf Oozysten. Während beider Versuche traten keine Spontaninfektionen auf.

Das Infektionsmaterial wurde vom Institut zur Verfügung gestellt. Es handelte sich um eine Eimeria nieschulzi-Reinkultur, die aus einer isolierten, einzelnen Oozyste gewonnen worden war (HEYDORN, 1970). Ich vermehrte diese Kultur, indem ich aus dem Kot zweier mit je 10^4 Oozysten infizierter Ratten die am 2. und 3. Tag der Patenz ausgeschiedenen Dauerstadien gewann.

Die Oozystenisolation aus dem Rattenkot erfolgte mit der Glycerinanreicherung. In Wasser aufgeweichter, gut verrührter Kot wurde durch grobe Metallsiebe in 250 ml Zentrifugengläser gegeben und 10 Minuten bei 550 g zentrifugiert. Nach Absaugen des Überstandes wurde der Bodensatz sorgfältig mit Glycerin aufgerührt und anschließend nochmals 15 Minuten bei 550 g zentrifugiert.

Die an der Oberfläche angereicherten Oozysten saugte ich ab und wusch sie zweimal mit Wasser aus. Die so gewonnenen Dauerstadien ließ ich in Drigalskischalen bei 22° C sporulieren. Täglich wurden die in 2,5%iger Kaliumbichromatlösung in dünner Schicht aufbewahrten Oozysten durch Umschwenken belüftet. Nach abgeschlossener Sporulation bewahrte ich die Kultur bei 4° C auf.

Die Zählung der mit dem Rattenkot ausgeschiedenen Oozysten sowie die Auszählung der Kultur erfolgte nach der von LONG und ROWELL (1958) beschriebenen Methode.

Die Infektionsdosis wurde den Ratten mittels Spritze und Knopfkanülen in den Magen verabreicht.

Die verwendeten Sera gewann ich unter sterilen Kautelen. Unter Chloroformnarkose wurden die Spenderratten durch Öffnung der großen im Halsbereich liegenden Gefäße entblutet. Das so gewonnene Blut mischte ich, um qualitativ gleiche Seren zu erhalten, in einem Sammelgefäß. Nach zwölfstündiger Gerinnung bei 20° C zentrifugierte ich das Blut in 50 ml Zentrifugengläsern 10 Minuten bei 200 g. Der Überstand wurde dekantiert und erneut zentrifugiert. Das klare Serum saugte ich ab, sterilisierte es durch Filtration und bewahrte es ohne Konservierungsmittel bei -20° C auf.

Die Lymphozytengewinnung erfolgte aus den Mesenteriallymphknoten immuner Ratten. Den unter Chloroformnarkose entbluteten und getöteten Tieren entnahm ich unter sterilen Bedingungen den Dünndarm und die dazugehörigen Gekröselymphknoten. Ich präparierte das lymphatische Gewebe mit Hilfe zweier gerader Dumontpinzetten. Die möglichst frei von anderem Gewebe gewonnenen Lymphknoten drückte ich unter Spülung mit heparinversetzter, steriler Tyrodelösung mit einem Stößel durch ein engmaschiges

Metallsieb in 12 ml Zentrifugengläsern. Die Lymphozyten von je 6 Spendertieren suspendierte ich in 10-11 ml Tyrodelösung und bewahrte sie bis zur intraperitonealen Verimpfung (nach spätestens 3 Stunden) bei Kühlschranktemperatur auf.

Stichprobenartige Untersuchungen der Lebensfähigkeit der Zellen durch Vitalfärbung mit Trypanblau ergaben, daß mehr als 90% der Zellen zum Zeitpunkt der Übertragung lebten. Die Zählung der Lymphozyten in einer Thoma-Kammer zeigte, daß von jeder Ratte durchschnittlich $1,9 \times 10^8$ Zellen gewonnen wurden; jede Übertragungsdosis enthielt demnach etwa $1,1 \times 10^9$ Lymphozyten.

Die Versuchsergebnisse wurden statistisch mittels ein-faktorieller Varianzanalyse ausgewertet.

B. Ergebnisse

a. Versuch zur passiven und adoptiven Übertragung der Immunität

Das Ziel dieses Versuches war es, festzustellen, ob sich bei der Eimeria nieschulzi-Infektion der Ratte passiv durch Serum oder adoptiv übertragene Immunitätsmechanismen in ihrer schützenden Wirkung unterscheiden. Durch gleichzeitige Übertragung von Serum und sensibilisierten Lymphozyten sollte außerdem untersucht werden, ob und wie sich humorale und zelluläre Immunitätsmechanismen in ihrer Wirkung ergänzen.

Bei meiner Versuchsplanung konnte ich hinsichtlich der Infektionsdosis und dem damit verbundenen Problem des

Übervölkerungseffekts auf Versuche von HEYDORN (1970) zurückgreifen, der mit dem gleichen Eimerienstamm an Ratten arbeitete. Als am günstigsten erwies sich eine Testinfektionsdosis von 10^3 Oozysten pro Tier, da bei dieser Dosierung der Übervölkerungseffekt keine entscheidende Rolle spielt, man also erwarten kann, daß auch ein geringer Immunitätsgrad sich in einer Reduktion der Oozystenausscheidung manifestiert.

Als Versuchstiere dienten mir in diesem Versuch 90 isohistokompatible Ratten sowie als Serumpspender 60 Sprague-Dawley-Ratten. 60 der Inzuchtratten immunisierte ich durch zwei Infektionen mit je 10^4 Eimeria nieschulzi-Oozysten in 14-tägigem Abstand. Ebenso verfuhr ich mit 30 Tieren der Serumpspendergruppe.

Während beider Patentperioden zählte ich von je 5 Kontrolltieren die ausgeschiedenen Oozysten. Nach der Erstinfektion ermittelte ich eine mittlere Oozystenproduktion von $138,2 \times 10^6$ je Tier, nach der Reinfektion erwiesen sich 4 der Kontrollratten als vollständig immun, während von einem Tier 10^3 Dauerstadien ausgeschieden wurden. Eine Kontrollgruppe von 5 Tieren zur 2. Infektion zeigte eine durchschnittliche Oozystenausscheidung pro Tier von $146,7 \times 10^6$.

Das Immunserum gewann ich 12 Tage nach der 2. Immunisierungsinfektion, die Lymphozyten vier Tage später.

Die 25 verbliebenen vollempfänglichen Inzuchtratten teilte ich in fünf Testgruppen zu je 5 Tieren auf.

Die Ratten der 1. Gruppe erhielten täglich vom 3. Tag vor der Testinfektion bis zum 7. Tag danach je 1 ml Immunserum intraperitoneal; ebenso die Tiere der 3. Gruppe, denen ich zusätzlich einen Tag vor der Infektion die Lymphozyten

aus den Mesenteriallymphknoten von je 6 immunen Ratten intraperitoneal übertrug ($1,1 \times 10^9$ Zellen pro Tier). Den Ratten der 2. Testgruppe übertrug ich einen Tag vor der Infektion Lymphozyten wie bei Gruppe 3 beschrieben, jedoch kein Serum. Während des gleichen Zeitraums wie bei Gruppe 1 verimpfte ich an die Tiere der 4. Gruppe täglich je 1 ml Rattennormalserum intraperitoneal. Die 5. Gruppe bestand aus 5 vollempfindlichen Kontrollratten.

Oozysten
(in Millionen)

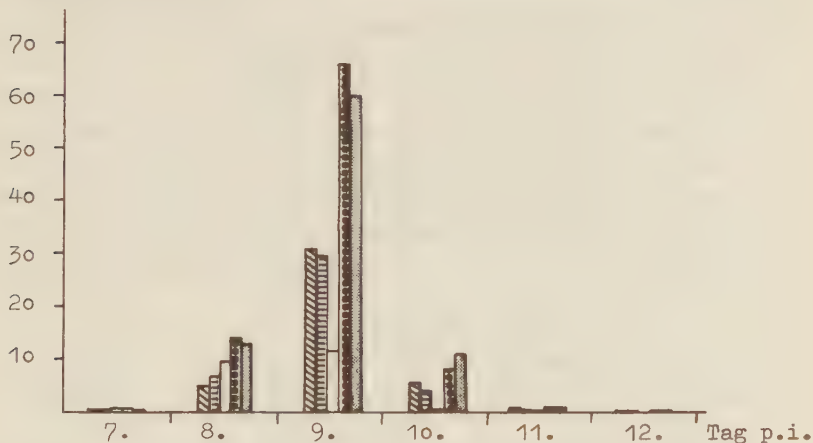


Abbildung 1 : Tägliche durchschnittliche Oozystenausscheidung je Ratte nach passiver und/oder adoptiver Immunisierung. Infektionsdosis pro Tier: 1000 E. nieschulzi-Oozysten.

- tägliche Immunseruminjektion (1 ml) vom 3. Tag a.i. bis zum 7. Tag p.i.
- 1,1 Milliarden Lymphozyten pro Tier einen Tag a.i.
- tägliche Immunseruminjektion (1 ml) vom 3. Tag a.i. bis zum 7. Tag p.i., zusätzlich 1,1 Milliarden Lymphozyten pro Tier einen Tag a.i.
- tägliche Normalserumgaben (1 ml) vom 3. Tag a.i. bis zum 7. Tag p.i.
- unbehandelte Kontrollgruppe

Während der Patenz ermittelte ich täglich die Gesamtzahl der von jeder Ratte mit dem Kot ausgeschiedenen Dauerstadien. Eine Zusammenstellung der durchschnittlichen Oozystenausscheidung pro Tier und Tag gibt Abbildung 1. Alle Tiere schieden am 7. Tag nach der Testinfektion die ersten Dauerstadien aus, das Maximum der Ausscheidung fiel bei allen Ratten auf den 9. Tag p. i.

Gruppe Nr.	Tier Nr.	nach Verabreichung von	Oozystenausscheidung (in Millionen) je Tier	Durchschnitt
1	1	tägl. 1 ml Immuns- serum je Tier i.p. vom 3. Tag vor bis zum 7. Tag nach der Infektion	37,6	43,4
	2		47,1	
	3		45,5	
	4		44,4	
	5		41,6	
2	6	1,1 x 10 ⁹ sensibi- lisierten Lympho- zyten pro Tier i.p. einen Tag vor der Infektion	45,1	39,8
	7		40,1	
	8		35,4	
	9		39,6	
	10		39,2	
3	11	Immuns- serum (wie bei Gruppe 1) und sen- sibilisierten Lym- phozyten (wie bei Gruppe 2)	21,0	21,9
	12		22,3	
	13		19,8	
	14		22,1	
	15		24,4	
4	16	tägl. 1 ml Normal- serum je Tier i.p. vom 3. Tag vor bis zum 7. Tag nach der Infektion	95,2	92,5
	17		98,3	
	18		88,9	
	19		93,1	
	20		86,9	
5	21	unbehandelte Kontrollgruppe	83,9	86,3
	22		78,5	
	23		96,3	
	24		86,7	
	25		86,1	

Tabelle 1 : Gesamt-oozystenausscheidung von passiv durch Serum und/oder adoptiv immunisierten Ratten nach einer Testinfektion mit 1000 sporulierten *Eimeria nieschulzi*-Oozysten

Die Ratten der Gruppen 4 und 5 (Normalserum i.p. bzw. unbehandelt) schieden mit 92,5 bzw. 86,3 x 10⁶ im Verlauf der gesamten Patenz etwa gleichviele Oozysten pro Tier aus. Weniger als die Hälfte davon (43,4 bzw. 39,8 x 10⁶) zählte ich jeweils bei den Tieren der 1. und 2. Gruppe, denen ich Immunserum bzw. Immunlymphozyten übertrug. Mit durchschnittlich 21,9 x 10⁶ Oozysten produzierten die 5 Ratten der 3. Gruppe (Immunserum und zusätzlich Immunlymphozyten) nach der Testinfektion deutlich die wenigsten Dauerstadien (Tabelle 1).

Ein statistischer Vergleich zwischen den Werten der Gruppen 4 und 5 ergab keinen signifikanten Unterschied, ebenso der Vergleich zwischen Gruppe 1 und 2. Jedoch erwies sich die Verringerung der ausgeschiedenen Oozysten der Testgruppen 1 und 2 gegenüber den Werten der 4. und 5. Gruppe als signifikant ($p < 0,01$). Der Wert von Gruppe 3 war gegenüber allen anderen Werten signifikant verringert ($p < 0,01$).

Es zeigte sich also, daß sich die Anzahl der ausgeschiedenen Oozysten durch alleinige Immunserumgaben über einen längeren Zeitraum auf etwa die Hälfte der Oozystenausscheidung unbehandelter, voll empfänglicher Ratten reduzieren läßt. Als etwa ebenso effektiv erwies sich die Transplantation von Immunlymphozyten. Wie aus den Ergebnissen dieses Versuches weiter hervorgeht, kommt es bei kombinierter Anwendung von Immunserum und Immunlymphozyten anscheinend zu einer Wirkungsaddition humoraler und zellulärer Immunitätsmechanismen. Normalserumgaben hatten keinen Einfluß auf den Infektionsablauf.

b. Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Faktoren (Immunisierungszeitpunkt und Applikationsmodus) bei der passiven Übertragung der Immunität

Das Ziel dieses 2. Versuches war es, festzustellen, ob sich auch durch einmalige Immunserumgaben zu verschiedenen Zeitpunkten vor der Infektion die Immunität gegen Kokzidien passiv übertragen läßt, und welcher Einfluß dem Immunisierungszeitpunkt dabei zukommt. Weiterhin sollten die Ergebnisse der passiven Immunisierung aus dem 1. Versuch durch Beibehaltung des gleichen Immunisierungsmodus überprüft werden.

Für dieses Experiment standen mir an Versuchstiermaterial 70 Sprague-Dawley-Ratten beiderlei Geschlechts sowie die 25 Testtiere des vorangegangenen Versuchs zur Verfügung. 30 der Sprague-Dawley-Ratten und die 25 isohistokompatiblen Tiere immunisierte ich wie im 1. Versuch beschrieben. 5 Kontrollratten zur 1. Infektion schieden im Durchschnitt $139,1 \times 10^6$ Oozysten aus, während sie sich nach der Reinfektion als vollständig immun erwiesen. Eine Kontrollgruppe von 5 Tieren zur 2. Infektion zeigte eine mittlere Ausscheidung von $128,7 \times 10^6$ Dauerstadien pro Tier. Immun- und Normalserum gewann ich nach der schon beschriebenen Methode.

In diesem Versuch bildete ich 6 Testgruppen zu je 5 Tieren. Den Ratten von Gruppe 1 verabfolgte ich 14 Tage vor der Testinfektion je 11 ml Immunserum intraperitoneal. Die gleiche Dosis Immunserum übertrug ich am 4. Tag vor der Infektion den Ratten der 2. Gruppe, während am gleichen Tag den 5 Versuchstieren von Gruppe 5 11 ml Normalserum i.p. injiziert wurden. Gruppe 3 erhielt am Tage der Infektion 11 ml Immunserum, die Ratten der 4. Gruppe täglich 1 ml Immunserum vom 3. Tag vor bis zum 7. Tag nach der Infektion. Die 6. Gruppe bestand aus 5 vollempfindlichen Kontrollratten.

Die Infektionsdosis je Tier enthielt wie im vorangegangenen Versuch 10^3 sporulierte Eimeria nieschulzi-Oozysten.

Gruppe Nr.	Tier Nr.	nach Verabreichung von	Oozystenausscheidung (in Millionen) je Tier	Durchschnitt
1	1		93,7	88,6
	2	11 ml Immunsrum	83,5	
	3	je Tier i.p. 14	101,8	
	4	Tage vor Infektion	81,9	
	5		82,3	
2	6		80,8	89,4
	7	11 ml Immunsrum	108,5	
	8	je Tier i.p. 4	80,0	
	9	Tage vor Infektion	93,2	
	10		84,4	
3	11		88,8	97,5
	12	11 ml Immunsrum	98,8	
	13	je Tier i.p. am	119,0	
	14	Tag der Infektion	89,2	
	15		91,7	
4	16	tägl. 1 ml Immunsrum	66,7	69,5
	17	je Tier i.p.	73,7	
	18	vom 3. Tag vor bis	72,9	
	19	zum 7. Tag nach	65,4	
	20	der Infektion	68,7	
5	21		128,2	112,3
	22	11 ml Normalserum	106,4	
	23	je Tier i.p. 4	112,2	
	24	Tage vor Infektion	104,9	
	25		109,8	
6	26		99,8	113,8
	27	unbehandelte	117,0	
	28	Kontrollgruppe	103,4	
	29		111,7	
	30		137,2	

Tabelle 2 : Oozystenausscheidung von Ratten nach passiver Immunisierung durch Serumübertragung in verschiedenem zeitlichen Abstand zur Infektion mit 1000 Eimeria nieschulzi-Oozysten

Wie aus Tabelle 2 zu entnehmen ist, schieden die Ratten der 4. Gruppe, denen ich über einen Zeitraum von 11 Tagen

täglich je 1 ml Immunserum übertrug, mit durchschnittlich $69,5 \times 10^6$ Oozysten pro Tier die wenigsten Dauerstadien aus. Die Ratten der drei Gruppen, denen ich am 14. und 4. Tag vor bzw. am Tag der Infektion Einzeldosen von 11 ml Immunserum verabfolgte, wiesen mit durchschnittlich 88,6, 89,4 bzw. $97,5 \times 10^6$ Dauerstadien pro Tier eine wenig differierende Oozystenausscheidung auf. Die Ratten der Gruppen 5 und 6 (mit Normalserum behandelt bzw. voll-empfänglich) schieden mit 112,3 bzw. $113,8 \times 10^6$ deutlich die meisten Oozysten pro Tier aus.

Der statistische Vergleich zwischen den Werten der Gruppen 1, 2 und 3 ergab keinen signifikanten Unterschied; ebenso der Vergleich zwischen Gruppe 5 und 6. Die Verringerung der Oozystenausscheidung der Testgruppen 1, 2 und 3 erwies sich jedoch als statistisch signifikant ($p < 0,05$) gegenüber den Werten der 5. und 6. Gruppe. Der Wert von Gruppe 4 war gegenüber allen anderen Gruppen signifikant verringert ($p < 0,01$).

Wie im 1. Versuch konnte auch in diesem die Oozystenausscheidung von Ratten durch intraperitoneale Immunserumgaben reduziert werden. Die besten Ergebnisse wurden durch tägliche Serumübertragung über einen längeren Zeitraum erreicht, doch bewirkte auch eine einmalige Serumgabe vor der Infektion eine signifikante Oozystenreduktion.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Das Ziel meiner Untersuchungen war die Klärung der Frage, ob die Immunität gegen Eimerien primär durch humorale Antikörper oder durch Lymphozyten vermittelt wird.

Die Ergebnisse der von mir durchgeführten Versuche lassen eindeutig den Schluß zu, daß an der Vermittlung der Immunität gegen Kokzidien humorale Faktoren und Lymphozyten beteiligt sind. Es gelang, die Immunität bis zu einem gewissen Grad passiv durch Serum und adoptiv durch Lymphozyten zu übertragen. Durch die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden somit sowohl die Befunde von ROSE (1971), der die passive Übertragung der Immunität durch Serum gelang, als auch die erfolgreichen adoptiven Übertragungsversuche von HEYDORN (1970) bestätigt.

Die Reduktion der Oozystenausscheidung war nach täglichen Immunseruminjektionen oder einmaliger Lymphozytenübertragung etwa gleich groß. Beide Immunmechanismen ergänzten sich so, daß bei gleichzeitiger Applikation von Immunlymphozyten und -serum die Reduktion der Oozystenausscheidung etwa doppelt so groß war wie nach der Verabreichung von Serum oder Lymphozyten allein.

Im Gegensatz zu den Versuchsergebnissen von LIBURD und MAHRT (1971), die durch die intravenöse Injektion von Ductus thoracicus-Lymphozyten immuner Ratten eine vollständige Immunität gegen Eimeria nieschulzi erreichen konnten, kam es in meinen Versuchen nach kombinierter Verabreichung von Serum und Lymphozyten zwar zu einer erheblichen Verringerung der Oozystenausscheidung, jedoch in keinem Fall zu einer vollständigen Immunität. Es ist möglich, daß ich in meinen Experimenten zu kleine Immunserumdosen bzw. zu wenig Lymphozyten übertrug, um

eine vollständige Immunität zu erreichen. Denkbar ist auch, daß die Übertragung nicht zum optimalen Zeitpunkt erfolgte, oder daß der Applikationsart (i.p. oder i.v.) eine entscheidende Rolle zukommt.

Wurde die gesamte Menge des Immunserums in einer Dosis 14 Tage bis wenige Stunden vor der Testinfektion verabreicht, so war eine geringe, doch signifikante Reduktion der Oozystenausscheidung zu beobachten. Dieser Befund überrascht insofern, als er im Gegensatz zu einer Fülle von Versuchen früherer Autoren steht, denen es nicht gelang, die Immunität gegen Kokzidien durch eine einmalige Serumgabe passiv zu übertragen. Wahrscheinlich beruht diese Diskrepanz auf den unterschiedlichen Methoden. Während in meinen Versuchen durch die Zählung der gesamten ausgeschiedenen Oozysten auch eine partielle Immunität erkannt werden konnte, beurteilten die früheren Untersucher den Erfolg der Immunitätsübertragung lediglich nach den klinischen Symptomen oder der nur grob geschätzten Oozystenmenge im Kot.

Warum es nach täglicher Injektion des Serums in kleinen Einzeldosen während der gesamten Infektionsperiode zu einer erheblich stärkeren Verringerung der Oozystenproduktion kam als nach einer einzigen Injektion der gleichen Gesamtmenge, vermag ich nicht zu erklären. Unklar bleibt weiter, welcher Natur die Abwehrstoffe in den verwendeten Seren sind, an welchem Ort und wie sie ihre schützende Wirkung entwickeln, ferner, auf welche Eimerienstadien sie einwirken. Nicht geklärt ist außerdem der Wirkungsmechanismus der sensibilisierten Lymphozyten sowie die Rolle des Interferon.

Es bleibt also eine Reihe von Fragen unbeantwortet, so

insbesondere auch, ob neben humoralen und zellulären Immunitätsmechanismen auch noch andere Faktoren bei der Immunitätsausbildung und -aufrechterhaltung gegen Kokzidien mitwirken.

V. Zusammenfassung

Es wurde in zwei Experimenten mit 90 Inzuchtratten vom Stamm BDE/Han sowie 155 Sprague-Dawley-Ratten versucht, die Immunität gegen *Eimeria nieschulzi* passiv durch Serum und adoptiv durch Lymphozyten aus den Mesenteriallymphknoten zu übertragen.

Während unbehandelte Kontrollratten nach einer Testinfektion mit 10^3 Oozysten insgesamt durchschnittlich $86,3 \times 10^6$ Dauerstadien ausschieden, wurden nach täglicher Immunserumgabe 43,4, nach einmaliger Lymphozytentransplantation 39,8 und nach kombinierter Verabreichung von Serum und Lymphozyten nur $21,9 \times 10^6$ Oozysten im Kot gezählt. Es gelang somit, durch Immunserumübertragung und durch Verabreichung sensibilisierter Lymphozyten die Oozystenausscheidung in gleich starkem Maße signifikant ($p < 0,01$) zu reduzieren. Bei kombinierter Anwendung von Serum und Lymphozyten trat eine weitere signifikante Verringerung der Oozystenanzahl im Kot ein.

In einem 2. Versuch zeigte sich, daß auch nach einer einmaligen Immunseruminjektion 14 und 4 Tage vor sowie zum Zeitpunkt der Testinfektion eine signifikante ($p < 0,05$) Verringerung der Oozystenzahlen auftrat ($88,6$, $89,4$ bzw. $97,5 \times 10^6$ gegenüber $112,3 \times 10^6$ bei mit Normalserum behandelten Ratten und $113,8 \times 10^6$ bei den Kontrollen), die jedoch wesentlich geringer war als nach Injektion der insgesamt gleich großen Serummenge in täglichen Einzeldosen ($69,5 \times 10^6$).

ATTEMPTS TO TRANSFER IMMUNITY TO EIMERIA NIESCHULZI
PASSIVELY WITH SERUM AND ADOPTIVELY BY
LYMPHOCYTES

Summary

An attempt was made, to transfer immunity to *E. nieschulzi* by intraperitoneal injections of serum and/or lymphocytes (from mesenteric lymphnodes), both obtained from immune donors.

The experimental animals used, were 90 isogenic BDE/Han rats and 155 Sprague-Dawley-rats, all reared free of coccidia.

After challenge with 10^3 sporulated oocysts, untreated controls had a mean oocyst output of $86,3 \times 10^6$, while rats, treated with serum for a course of 11 days (started 3 days before inoculation), were observed to have a lower oocyst output ($43,4 \times 10^6$). Similar results were found in rats injected with about $1,1 \times 10^9$ lymphocytes one day before inoculation. The mean oocyst number produced, was $39,8 \times 10^6$. The lowest oocyst counts ($21,9 \times 10^6$) were found in rats treated with both, serum and lymphocytes.

The results of a second experiment demonstrate, that a single injection of serum was even effective in passive transfer of immunity to susceptible recipients. Rats treated with 11 ml serum 14 days, 4 days or some hours before infection, had a significant reduction of oocyst output ($88,6$, $89,4$ and $97,5 \times 10^6$) in comparison with the controls ($113,8 \times 10^6$), but the depression in total numbers of oocysts was not as great as that, found after a prolonged daily course (11 days) of small serum injections ($69,5 \times 10^6$).

VI. Literaturverzeichnis

1. Augustin, R., A. P. Ridges (1963): Immunity mechanisms in *Eimeria meleagridis*. In: Immunity to Protozoa 296-335, Ed. P. C. C. Garnham, A. E. Pierce, I. Roitt, Blackwell Scientific Publications, Oxford
2. Bachmann, G. W. (1930): Immunity in experimental coccidiosis of rabbits. *Am. J. Hyg.* 12, 641-649
3. Bauer, J. A., S. H. Stone (1961): Isologous and homologous lymphoid transplants. I. The transfer of tuberculin hypersensitivity in inbred guinea-pigs. *J. Immunol.* 86, 177-189
4. Becker, E. R., P. R. Hall (1933): Quantitative character of coccidian infection in recipients of blood from immunized animals. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 86, 789-790
5. Becker, E. R., P. R. Hall, R. Madden (1935): The mechanism of immunity in murine coccidiosis. *Am. J. Hyg.* 21, 389-404
6. Burns, W. C., J. R. Challey (1959): Resistance of birds to challenge with *Eimeria tenella*. *Expl Parasit.* 8, 515-526
7. Burns, W. C., J. R. Challey (1965): Serum lysins in chickens infected with *Eimeria tenella*. *J. Parasit.* 51, 660-668
8. Centurier, C. (1970): Untersuchungen über die Möglichkeit der Beeinflussung latenter Toxoplasmainfektionen bei NMRI-Mäusen durch Immunsuppressiva. *Vet.-med. Diss., FU Berlin*
9. Černá, Ž. (1966): Anwendung der indirekten Fluoreszenz-antikörperreaktion zum Nachweis der Antikörper bei Kaninchenkokzidiose. *Zentbl. Bakt. ParasitKde*, I. Abt. Orig. 199, 264-267
10. Černá, Ž. (1969): Antibodies in chicks infected by *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina*, detected by an indirect fluorescent reaction. *Acta vet.*, Brno 38, 37-41
11. Challey, J. R., W. C. Burns (1959): The invasion of the cecal mucosa by *Eimeria tenella* sporozoites and their transport by macrophages. *J. Protozool.* 6, 238-241

12. Chase, M. W. (1945): The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity to tuberculin. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 59, 134-136
13. Doran, D. J. (1966): The migration of *Eimeria acervulina* sporozoites to the duodenal glands of Lieberkühn. J. Protozool. 13, 27-33
14. Euzéby, J., C. Garcin, N. Grosjean (1969): Physio-pathologie de la coccidiose caecale du poulet: Étude expérimentale de l'immunogénèse, action de sérums antilymphozytaires spécifiques. C. r. heb. Séanc. Acad. Sci., Paris 268, 1616-1618
15. Fayer, R., S. Baron (1971): Activity of interferon and an inducer against development of *Eimeria tenella* in cell culture. J. Protozool. 18, Suppl., 12
16. Frenkel, J. K. (1967): Adoptive immunity to intracellular infection. J. Immunol. 98, 1309-1319
17. Günther, O. (1965): Die "Gewebeimmunität" im Stufenschema der Immunität. Zbl. Bakt. I. Orig. Bd. 198, 181-184
18. Heist, C. E., T. D. Moore (1959): Serological and immunological studies on coccidiosis of rabbits. J. Protozool. 6, Suppl., 7
19. Henry, D. P. (1931): Allergy and immunity in coccidial infections. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 28, 831-832
20. Herlich, H. (1965): Effect of chicken antiserum and tissue extracts on the oocysts, sporozoites and merozoites of *Eimeria tenella* and *Eimeria acervulina*. J. Parasit. 51, 847-851
21. Heydorn, A. O. (1970): Versuche zur adoptiven Übertragung der Immunität gegen *Eimeria nieschulzi* (Dieben, 1924) durch Lymphozyten. Vet. med. Diss., FU Berlin
22. Horton-Smith, C., J. Beattie, P. L. Long (1961): Resistance to *Eimeria tenella* and its transference from one caecum to the other in individual fowls. Immunology 4, 111-121
23. Horton-Smith, C., P. L. Long, A. E. Pierce (1963): Behavior of invasive stages of *Eimeria tenella* in the immune fowl (*Gallus domesticus*). Expl Parasit. 14, 66-74

24. Horton-Smith, C., P. L. Long, A. E. Pierce, M. E. Rose (1963): Immunity to coccidia in domestic animals. In: Immunity to Protozoa, 273-295, Ed. P. C. C. Garnham, A. E. Pierce, I. Roitt, Blackwell Scientific Publications, Oxford
25. Huff, D., D. T. Clark (1970): Cellular aspects of the resistance of chickens to *Eimeria tenella* infections. J. Protozool. 17, 35-39
26. Itagaki, K., M. Tsubokura (1963): Serological studies on coccidiosis in the fowl. I. Precipitation reaction with the serum of rabbits immunized with oocysts. II. Precipitation with serum from infected fowls. Jap. J. Vet. Sci. 25, 119-125, 187-192
27. Leatham, W. D., W. C. Burns (1967): Effects of the immune chicken on the endogenous stages of *Eimeria tenella*. J. Parasit. 53, 180-185
28. Liburd, E. M., J. L. Mahrt (1971): Adoptive immunity to *Eimeria nieschulzi* in rats. J. Protozool. 18, Suppl., 27
29. Long, P. L., B. S. Milne (1971): The effect of an interferon inducer on *Eimeria maxima* in the chicken. Parasitology 62, 295-302
30. Long, P. L., A. E. Pierce (1963): Role of cellular factors in the mediation of immunity to avian coccidiosis (*Eimeria tenella*). Nature, Lond. 200, 426-427
31. Long, P. L., M. E. Rose (1962): Attempted transfer of resistance to *Eimeria tenella* infections from domestic hens to their progeny. Expl Parasit. 12, 75-81
32. Long, P. L., M. E. Rose (1963): Some recent work on immunity to *Eimeria* infections in fowls. Parasitology 53, 10P
33. Long, P. L., M. E. Rose (1965): Active and passive immunisation of chickens against intravenously induced infections of *Eimeria tenella*. Expl Parasit. 16, 1-7
34. Long, P. L., M. E. Rose (1970): Extended schizogony of *Eimeria mivati* in betamethasone-treated chickens. Parasitology 60, 147-155

35. Long, P. L., M. E. Rose, A. E. Pierce (1963): Effects of fowl sera on some stages in the life cycle of *Eimeria tenella*. Expl Parasit. 14, 210-217
36. Long, P. L., J. G. Rowell (1958): Counting oocysts of chicken coccidia. Lab. Pract. 7, 515-519
37. McDermott, J. J., L. A. Stauber (1954): Preparation and agglutination of merozoite suspensions of the coccidium *Eimeria tenella*. J. Parasit. 40, Suppl., 23-24
38. Morehouse, N. F. (1938): The reaction of the immune epithelium of the rat to reinfection with *Eimeria nieschulzi*. J. Parasit. 24, 311-317
39. Patillo, W. H. (1959): Invasion of the cecal mucosa of the chicken by sporozoites of *Eimeria tenella*. J. Parasit. 45, 253-257
40. Pierce, A. E., P. L. Long (1965): Studies on acquired immunity to coccidiosis in bursaless and thymectomized fowls. Immunology 9, 427-439
41. Pierce, A. E., P. L. Long, C. Horton-Smith (1962): Immunity to *Eimeria tenella* in young fowls (*Gallus domesticus*). Immunology 5, 129-152
42. Pierce, A. E., P. L. Long, C. Horton-Smith (1963): Attempts to induce passive immunity to *Eimeria tenella* in young fowls (*Gallus domesticus*). Immunology 6, 37-47
43. Ridges, A. P. (1962): Immunity to *Eimeria meleagridis*. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg. 56, 8
44. Rommel, M. (1969): Untersuchungen über Infektionsverlauf sowie Ausbildung und Natur der Immunität an experimentell mit *Eimeria scabra* (HENRY, 1931) und *E. polita* (PELLERDY, 1949) infizierten Schweinen. Vet. med. Habil. Schrift, FU Berlin
45. Rose, M. E. (1959): Serological reactions in *Eimeria stiedae* infection of the rabbit. Immunology 2, 112-122
46. Rose, M. E. (1961): The complement-fixation test in hepatic coccidiosis. Immunology 4, 346-353
47. Rose, M. E. (1968a): The effect of splenectomy upon infection with *Eimeria tenella*. Parasitology 58, 481-487

48. Rose, M. E. (1968b): Immunity to the *Eimeria*. In: Immunity to Parasites. 6th Symp. Br. Soc. Parasit., 43-50, Ed. A. E. R. Taylor, Blackwell Scientific Publications, Oxford/Edinburgh
49. Rose, M. E. (1970): Immunity to coccidiosis: effect of betamethasone treatment of fowls on *Eimeria mivati* infections. *Parasitology* 60, 137-146
50. Rose, M. E. (1971): Immunity to coccidiosis: protective effect of transferred serum in *Eimeria maxima* infections. *Parasitology* 62, 11-25
51. Rose, M. E., P. L. Long (1962): Immunity to four species of *Eimeria* in fowls. *Immunology* 5, 79-92
52. Rose, M. E., P. L. Long (1970): Resistance to *Eimeria* in the chicken: the effect of thymectomy, bursectomy, whole body irradiation and cortisone treatment. *Parasitology* 60, 291-299
53. Rytel, M. W., T. C. Jones (1966): Induction of interferon in mice infected with *Toxoplasma gondii*. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 123, 859-862
54. Schultz, W. W., K. Y. Huang, F. B. Gordon (1968): Role of interferon in experimental mouse malaria. *Nature, Lond.* 220, 709-710
55. Tyzzer, E. E. (1929): Coccidiosis in gallinaceous birds. *Am. J. Hyg.* 10, 269-383
56. Tyzzer, E. E., H. Theiler, E. E. Jones (1932): Coccidiosis in gallinaceous birds. II. A comparative study of species of *Eimeria* in the chicken. *Am. J. Hyg.* 15, 319-393
57. van Doorninck, W. M., E. R. Becker (1957): Transport of sporozoites of *Eimeria necatrix* in macrophages. *J. Parasit.* 43, 40-44.

Herrn Professor Dr. J. Boch danke ich
für die Überlassung des Themas und die
stets gewährte Unterstützung.

Mein Dank gilt weiterhin Herrn Profes-
sor Dr. M. Rommel und Herrn Dr. A.-O.
Heydorn, deren sachkundiger Rat wesent-
lich zum Gelingen der Arbeit beitrug.

Lebenslauf

Am 4. August 1943 wurde ich als Sohn des Geschäftsführers Richard Wittchow und seiner Ehefrau Luise geb. Sager in Rogasen/Warthegeau geboren.

Von 1950-54 besuchte ich die Knabenvolksschule in Lauenburg/Elbe und anschließend das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium in Geesthacht, an dem ich im März 1963 die Reifeprüfung bestand. Nach 18-monatiger Wehrdienstzeit in Flensburg immatrikulierte ich mich zum Wintersemester 1964 an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin. Hier legte ich im September 1966 das Physikum und im Januar 1970 das Staatsexamen ab. Von Januar 1970 bis Oktober 1971 arbeitete ich als Assistenztierarzt an einer Besamungsstation mit angeschlossener Großtierpraxis.

1968 heiratete ich die Gymnastiklehrerin Aenne Burmeister.

